



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2519-268X print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8507
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 637.354.8

Selection of lactic acid bacteria isolated from natural ecosystems for production of cultured butter for herodietic use

O.Y. Tsisaryk, I.M. Slyvka, L.Y. Musiy, I.I. Kuschnir

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 22.01.2018
Received in revised form
27.02.2018
Accepted 02.03.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010,
Ukraine.
Tel.: +38-067-600-11-04,
+38-097-986-15-44,
+38-098-132-31-63
E-mail: tsisaryk_o@yahoo.com,
slyvka.88@ukr.net,
musiyiluba@ukr.net

Tsisaryk, O.Y., Slyvka, I.M., Musiy, L.Y., & Kuschnir, I.I. (2018). Selection of lactic acid bacteria isolated from natural ecosystems for production of cultured butter for herodietic use. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(85), 35–40. doi: 10.15421/nvlvet8507

The purpose of our work was to investigate technological parameters and antibiotic resistance of lactic acid bacteria (LAB) strains isolated from natural ecosystems in order to form a bacterial composition for cultured butter with functional properties. Samples of ewe's cheese brynza selected from Chernivtsi region were analyzed. Seven cultures were selected to study the properties of strains in order to create a starter for the production of cultured butter: 1 strain of *Lactococcus lactis*, 2 strains of *Leuconostoc mesenteroides* and 4 strains of *Lactobacillus plantarum*. The temperature optimum, acid forming and milk-coagulation activity and antibiotic resistance were studied. The temperature optimum was investigated at different temperature regimes 10, 30 and 45 °C. Cell growth at these temperatures was determined by changing the color of the bouillon – from purple to yellow. Acid-forming activity was evaluated by decreasing the pH of the milk, which was fermented by the appropriate bacterial strain. The bacteria were incubated in sterile skim milk that was poured into 5 ml of the test tube, sowed with 1% inoculum and incubated at 30 °C in a thermostat for 3, 6, 9, 24 h. Determination of antibiotic sensitivity was carried out by agar diffusion method, using standard paper disks with antibiotics. The ruler measured the diameter of the growth retardation area around the disks, including the discs itself. Growth regions were determined in mm. According to research results, three strains of the LAB for the production of cultured butter: were selected: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strain IMAU32258, *Lactobacillus plantarum* strain WCFS1, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* SWU99202. *L. lactis* ssp. *lactis* strain IMAU32258 was selected as the main acidifier (98 °T) as part of a starter. Strain *L. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* SWU99202 was involved in a starter, as an aroma-forming form. The strain *L. plantarum* WCFS1 was selected for its functional properties, namely, lowering the level of cholesterol in the blood serum, synthesizing bacteriocin and biologically active isomer of trans-11 conjugated linoleic acid, enhancing the immune response in gluten-tolerance, as indicated in the literature. These properties of *L. plantarum* will be able to give the product herodietic properties.

Key words: brynza, lactic acid bacteria, strains, technological properties, *L. plantarum*.

Підбір молочнокислих бактерій, ізолюваних з природних екотипів, для виготовлення кисловершкового масла геродієтичного призначення

О.Й. Цісарик, І.М. Сливка, Л.Я. Мусій, І.І. Кушнір

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
м. Львів, Україна

Метою роботи було дослідити технологічні показники та антибіотикорезистентність штамів молочнокислих бактерій (МКБ), виділених із природних екотипів, з метою формування бактеріальної композиції для кисловершкового масла з функціональними властивостями. У роботі проаналізовано зразки овечого сиру бринза, відібрані із Чернівецької області. Для досліджень властивостей штамів МКБ з метою створення препарату для виробництва кисловершкового масла ми відібрали 7 культур: 1 штамі *Lactococcus lactis*, 2 штамі *Leuconostoc mesenteroides* і 4 штамі *Lactobacillus plantarum*. Досліджували температурний оптимум, кислотоутворювальну і молокозгортальну активність та антибіотикорезистентність. Температурний оптимум досліджували

при різних температурних режимах – 10, 30 і 45 °C. Ріст клітин при цих температурах визначався за зміною забарвлення бульйону – від фіолетового до жовтого. Кислотоутворювальну активність оцінювали за зниженням pH молока, сквашеного відповідним бактеріальним штамом. Бактерії інкубували в стерильному знежиреному молоці без внесення додаткових компонентів, яке розливали у 5 мл пробірки, засівали 1% інокуляту та інкубували при 30 °C у термостаті протягом 3, 6, 9, 24 год. Визначення чутливості до антибіотиків проводили методом дифузії в агар, із використанням стандартних паперових дисків з антибіотиками. За допомогою лінійки вимірювали діаметр зони затримки росту довкола дисків, включаючи самі диски. Зони затримки росту визначали в мм. За результатами досліджень для виробництва кисловершкового масла було відібрано три штами МКБ: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* штам IMAU32258, *Lactobacillus plantarum* штам WCFS1, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* SWU99202. Штам *L. lactis* ssp. *lactis* IMAU32258 обраний як основний кислотоутворювач (98 °T) у складі бактеріального препарату. Штам *L. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* SWU99202 залучений до бактеріального препарату, як ароматоутворювальний вид. Штам *L. plantarum* WCFS1 вибраний за його функціональними властивостями, а саме: зниженням рівня холестеролу в сироватці крові, синтезом бактеріоцинів і біологічно активного ізомеру транс-11 кон'югованої лінолевої кислоти, посиленням імунної відповіді при глютенівій толерантності, про що вказують повідомлення в літературі. Ці властивості *L. plantarum* зможуть надати продуктові геродістичних властивостей.

Ключові слова: бринза, молочнокислі бактерії, штами, технологічні властивості, *L. plantarum*.

Вступ

Пошук нових штамів молочнокислих бактерій (МКБ), їх виділення із різних природних джерел, зокрема із традиційних кисломолочних продуктів, та вивчення їх властивостей сьогодні є актуальними (Bondarenko et al., 2004; Slyvka, 2015).

За кордоном, зокрема в Японії, Китаї, Туреччині, Італії та інших країнах розробляють бактеріальні препарати для кисломолочних продуктів на основі природних популяцій молочнокислих бактерій, характерних для традиційних національних продуктів (Lantinen et al., 2012). Вітчизняні розробки щодо виділення та ідентифікації таких бактерій з природних джерел і створення на їх основі бактеріальних препаратів відсутні. Тому залучення штамів МКБ, ізольованих з традиційних продуктів, та розробка технологій промислового виробництва кисломолочних продуктів з їх використанням є актуальним і своєчасним завданням. Крім того, виробництво національних продуктів у промислових умовах може надати значного поштовху розвитку традиційних, століттями напрацьованих, технологій (Diduh et al., 2008).

З метою запобігання втраті біорізноманіття МКБ традиційних кисломолочних продуктів і сирів, важливою є їх точна ідентифікація з використанням сучасних молекулярно-генетичних методів, що дозволяє уникнути помилок із застосуванням лише класичних мікробіологічних методів (Lashhevskij and Kovalenko, 2004; Kremenchuk'kyj et al., 2009). Це обґрунтовується використанням близькосторідних видів мікроорганізмів у складі бактеріальних препаратів для функціональних продуктів, диференціація яких ускладнена внаслідок перехресних міжвидових властивостей. Як джерело штамів МКБ ми використали традиційний овечий карпатський сир – бринзу, мікробіальна популяція якого формувалась протягом багатьох століть, однак досі залишається не дослідженою. Сьогодні у багатьох країнах світу саме мікрофлора традиційних ферментованих продуктів і сирів активно вивчається, оскільки з неї виділяють штами, наділені цінними технологічними і пробіотичними властивостями. Крім того, у цих популяціях сформувались симбіотичні взаємовідносини, які слугують зразком для створення композицій (Slyvka, 2015).

Нами виділено культури МКБ із карпатської бринзи та ідентифіковано із використанням класичних

мікробіологічних і сучасних молекулярно-генетичних методів (RAPD–PCR, RFLP–PCR, секвенування гену 16S рРНК) (Tsisaryk et al., 2017). Ген 16S рРНК, вважається універсальним генетичним маркером, що використовується в процесі дослідження бактеріальних популяцій, який присутній у геномі усіх видів бактерій. До складу бактеріального геному може входити кілька копій гена 16S рРНК, що відрізняються окремими ділянками нуклеотидної послідовності. Незначні відмінності в секвенції гена 16S рДНК, або генетичний поліморфізм, дозволяють диференціювати групи мікроорганізмів. Послідовність 16S рРНК ми порівнювали з послідовностями ампліфікованих фрагментів із бази Nucleotide Sequence Database of National Center for Biotechnology Information (Gen Bank NCBI) (Brown, 2001).

Зі зразків карпатської бринзи для виробництва кисловершкового масла було відібрано 7 штамів (штами отримали номери SB2, SB5, SB7, SB8, SB17, SB44, SB45) секвенованих МКБ. За визначенням нуклеотидних послідовностей встановлено таксономічне положення із гомологією 98–99% для 2 ізолятів МКБ, 95% для 1 ізоляту, 94% для 1 ізоляту, 93% для 1 ізоляту та 90% для 2 ізолятів. Таксони відносилися до 3 видів: *L. plantarum* ssp., *L. mesenteroides* ssp., *L. lactis* ssp. *lactis* (Slyvka, 2015).

Масло – високожирний та біологічно цінний продукт завдяки високому вмісту жирних кислот з різносторонньою біологічною дією – поліненасичених, транс-11 ізомерів С18, розгалужених жирних кислот, масляної кислоти, а також фосфоліпідів і жиророзчинних вітамінів. Підвищити біологічну цінність масла можна завдяки використанню пробіотичних молочнокислих бактерій, виготовляючи при цьому кисловершковий його вид та одночасно знизивши масову частку жиру у ньому. Такий продукт на ринку України відсутній (Cisaryk et al., 2010).

Для виробництва кисловершкового масла використовують заквашувальні культури із спеціально підібраним видовим складом переважно мезофільних молочнокислих бактерій, таких як *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*, *Leuconostoc* (Samarzija et al., 2001; Kovalenko, 2002). Такі культури здатні утворювати значну кількість ароматичних речовин і є помірними кислотоутворювачами. Для підвищення активності кислотоутворення та надання пробіотичних властивостей пропонують використовувати у складі препаратів

для кисловершкового масла штами молочнокислих паличок: *L. helveticum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricum* у комбінації з *L. diacetylactis*, а також біфідобактерії (Pavlova et al., 2009). У літературі не знайдено опису застосування *L. plantarum* для сквашування вершків при виробництві кисловершкового масла, що і є новою наукових досліджень. Штам *L. plantarum* WCFS1, який ізолюваний із карпатської бринзи (Сливка І.М., кандидатська дисертація «Біотехнологія створення бактеріального препарату для виробництва бринзи», 2015 р.), пропонуємо використовувати для бактеріальної композиції при виробництві кисловершкового масла. Цей штам є пробіотичним, він детально вивчений і описаний за послідовністю цілого геному. Штам є представником мікробіоценозу людини, підтверджено його вплив на формування імуностатусу організму (Perdana et al., 2012; Bron et al., 2006).

Автори By Maurad and Meriem дослідили пробіотичні властивості штамів *L. plantarum*, виділених із традиційного масла з молока верблюдиць (Maurad and Kaid-Harche, 2008), саме це наштовхнуло нас на ідею використати цей вид для кисловершкового масла.

Автори Khosravi, Safari, Khodaiyan and Gharibzadeh встановили підвищення вмісту кон'югованої лінолевої кислоти у знежиреному молоці за включення *L. plantarum*. Експериментально встановлено, що *цис*-9, *транс*-11 КЛК інгібує розвиток злоякісної меланоми людини, а також ракові клітини лінії MCF-7 прямої кишки і молочної залози (Khosravi et al., 2015).

Автори Guo, Yang та Huo ідентифікували пробіотичний штам *L. plantarum* KLDS 1.0344, який впливає на зниження рівня холестеролу в сироватці крові (Li-Dong et al., 2015).

Метою роботи було дослідження технологічних показників та антибіотикорезистентності штамів МКБ, виділених із природних екзотів, з метою формування бактеріальної композиції для кисловершкового масла з функціональними властивостями.

Матеріал і методи досліджень

У роботі проаналізовано зразки овечого сиру бринзи, відібрані із Чернівецької області.

За основні критерії оцінки придатності культур МКБ як складових майбутнього бактеріального препарату було взято необхідні технологічні параметри, які включали температурні оптимуми культивування штамів МКБ, кислотоутворювальну активність та антибіотикорезистентність.

Ріст молочнокислих бактерій за різних температур. 0,5 мл інокульованого бактеріями бульйону MRS або M17 вносили в пробірки із 5 мл спеціально приготовленого бульйону для визначення здатності бактерій рости при різних температурах. Після інокуляції культуральної рідини її інкубували протягом 7 днів при різних температурних режимах – 10, 30 і 45 °C. Ріст клітин при цих температурах визначали за зміною забарвлення бульйону – від фіолетового до жовтого.

Кислотоутворювальну активність оцінювали за зниженням pH молока, сквашеного бактеріями відповідних штамів. Бактерії інкубували в стерильному знежиреному молоці без внесення додаткових компонентів, яке розливали у 5 мл пробірки, засівали 1% інокуляту та інкубували при 30 °C у термостаті протягом 3, 6, 9, 24 год. Титровану кислотність молока визначали за ГОСТ 3624-92 «Молоко і молочні продукти. Титриметричні методи визначення кислотності». Вимірювання активної кислотності проводили за допомогою електронного pH-метра «Muttler Toledo MP220».

Культивування мікроорганізмів проводили протягом 24 год на спеціальних живильних середовищах (MRS та M17) Культивували кожен культуру окремо протягом 24 год за температури 30 °C. Після закінчення процесу вирощування культуральну рідину нейтралізували до pH (6,5...6,6) та відокремлювали біомасу шляхом центрифугування на суперцентрифугі при 15000 об/хв фірми Thermo Scientific, після чого змішували із захисним середовищем. Захисне середовище, яке використовували для біомаси клітин, містило сахарозу (10%), цитрат натрію (5%) та сухе знежирене молоко (30%). Співвідношення біомаси клітин до захисного середовища становило 1:2. Суспензії бактеріальних клітин заморожували і сушили методом сублімації протягом (18 ± 2) год. Початкова температура сушіння –25 °C, при закінченні +36 °C.

Визначення чутливості до антибіотиків проводили методом дифузії в агар із використанням стандартних паперових дисків з антибіотиками згідно з «Інструкцією для медичного застосування дисків з антибіотиками для визначення мікроорганізмів до лікарських засобів». Результати враховували за відсутності росту мікроорганізмів навколо дисків. За допомогою лінійки вимірювали діаметр зони затримки росту довкола дисків, включаючи самі диски. Зони затримки росту визначали в мм, дослідження проведені з триразовим повторенням (n = 3).

Чутливість мікроорганізмів диференціювали за діаметром зони затримки росту як: стійкі до 10,5 ± 0,5 мм; помірно-чутливі до 20,5 ± 0,5 мм; чутливі до 21,5 мм і більше.

Визначали чутливість до 11 груп антибіотиків: макроліди, тетрацикліни, фторхінолони, цефалоспорины, нітрофурані, хлорамфеніколи, глікопептиди, поліміксини, рифампіцини, аміноглікозиди та пеніциліни.

Результати та їх обговорення

При відборі штамів МКБ для виробництва кисловершкового масла за технологічними властивостями важливо враховувати температурний оптимум їх розвитку, оскільки температура ферментації вершків має принципове значення, враховуючи температурні впливи на фазові перетворення молочного жиру і поліморфні модифікації кристалів триацилгліцеролів. При виробництві кисловершкового масла використовують переважно мезофільні МКБ. Встановлено, що всі штами *L. plantarum*, *L. lactis ssp. lactis* та *L. mesenteroides* росли за температури 10 °C та 30 °C, тимчасом як за температури 45 °C росту не спостері-

галосся. Результати досліджень наведено у таблиці 1. Це вказує на можливість вибору температури ферментації вершків у досить широкому діапазоні, а також на поєднання ферментації і визрівання вершків за використання ступеневого режиму визрівання.

За здатністю бактерій до утворення молочної кислоти найкращими кислотоутворювачами із виду *L. lactis subsp. lactis* була культура – SB44 із енергією кислотоутворення 94 °T за 24 год (табл. 2).

Представники виду *L. plantarum* характеризувались помірною кислотоутворювальною здатністю, культури SB17 – 75 °T; SB7 – 81 °T; SB5 – 84 °T; SB2 – 72 °T. Менш вираженою кислотоутворювальною здатністю відзначались штами *L. mesenteroides* SB45 – 63 °T та SB8 – 67 °T.

МКБ можуть бути резервуаром генів стійкості до антибіотиків із подальшим перенесенням таких генів до патогенних та опортуністичних мікроорганізмів. Є дані, що гени стійкості до антибіотиків, які містяться у МКБ, можуть передаватися до патогенних бактерій у процесі виробництва харчових продуктів або під час проходження їх через шлунковий тракт людини. Немає жодного бар'єру між патогенними мікроорганізмами, потенційно патогенними та комменсалами, який би запобігав передачі набутої резистентності. Таким чином, для біотехнологів, мікробіологів, спеціалістів, які працюють з харчовими продуктами, є очевидним факт, що необхідно уникати поширення бактерій, які несуть мобільні гени стійкості (Ammor et al., 2007).

Результати визначення чутливості досліджуваних штамів ентерококів до антибіотиків наведено у таб-

лиці 3. Виділені культури кваліфікували як нечутливі, помірно чутливі та чутливі – за величиною зон затримки росту

За результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що досліджувані штами МКБ продемонстрували високу чутливість до антибіотиків усіх груп, за винятком аміноглікозидів (стрептоміцин, канаміцин) та пеніцилінів. Природна чутливість до аміноглікозидів пояснюється тим, що у анаеробів, відсутні системи перенесення цих антибіотиків через плазматичну мембрану клітини (Botina, 2008).

Стійкість до пеніцилінів можна обґрунтувати наявністю в МКБ спеціальних ферментів, які інактивують дію пеніциліну. Такі ферменти мають назву бета-лактамази, або пеніцилінази – група бактеріальних ферментів, здатних розривати бета-лактамне кільце деяких антибіотиків (пеніцилінів, цефалоспоринов, карбапенемів та монобактамів), що відносяться до класу бета-лактамів (Busani et al., 2004).

Серед досліджуваних штамів МКБ більшість виявилися чутливими до широкого спектру антимікробних препаратів, відповідно, такі штами надалі можуть бути використані як стартерні культури.

Таким чином, відібрані нами штами, ізольовані із природних еконіш, характеризуються добрими технологічними властивостями, є чутливими до антибіотиків, а тому можуть розглядатись як перспективні для виробництва кисловершкового масла з функціональними властивостями.

Таблиця 1

Характеристика МКБ за здатністю рости за різних температур

№	Назва штаму	Ріст за температури, °C		
		10	30	45
SB17	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain RU26303	+	+	-
SB44	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> strain IMAU32258	+	+	-
SB7	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain WCFS1	+	+	-
SB5	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain KLDS 1.0728	+	+	-
SB45	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain SWU99202	+	+	-
SB8	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain A7	+	+	-
SB2	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain C11(5)	+	+	-

Примітка: «+» – спостерігається ріст; «-» – відсутність росту

Таблиця 2

Показники кислотоутворювальної активності МКБ

№	Назва штаму	3 год		6 год		9 год		24 год	
		pH	°T	pH	°T	pH	°T	pH	°T
SB17	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain RU26303	6,28	38,0	6,00	44,5	5,85	50,0	5,15	75,0
SB44	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> strain IMAU32258	6,29	39,0	5,90	45,0	5,38	65,0	4,90	94,0
SB7	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain WCFS1	6,21	41,0	5,97	47,5	5,76	54,0	5,14	81,0
SB5	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain KLDS 1.0728	6,26	40,0	5,99	46,0	5,88	52,0	5,02	84,0
SB45	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain SWU99202	6,35	39,0	6,00	42,0	5,80	52,0	5,41	63,0
SB8	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain A7	6,40	38,0	6,05	41,0	5,76	53,0	5,30	67,0
SB2	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain C11(5)	6,34	37,0	6,12	41,0	5,96	49,0	5,28	72,0

Таблиця 3

Чутливість досліджуваних штамів МКБ до антибіотиків

Диски з антибіотиками	Концентрація, мкг	Зони затримки росту (мм) n = 3, до 10,5 ± 0,5 стійкі; до 20,5 ± 0,5 помірно-чутливі; 21,5 і більше – чутливі						
		SB17	SB44	SB7	SB5	SB45	SB8	SB2
Амоксицилін	10	20,3 ± 0,3	21,7 ± 0,2	19,7 ± 0,1	22,7 ± 0,5	21,3 ± 0,5	20,7 ± 0,3	23,7 ± 0,3
Оксацилін	5	9,3 ± 0,2	–	10,3 ± 0,1	12,3 ± 0,3	11,7 ± 0,2	9,7 ± 0,1	10,0 ± 0,3
Гентаміцин	10	24,3 ± 0,3	23,3 ± 0,3	21,0 ± 0,6	25,7 ± 0,3	27,7 ± 0,5	21,3 ± 0,6	23,7 ± 0,3
Стрептоміцин	10	13,3 ± 0,3	11,7 ± 0,3	9,7 ± 0,1	10,3 ± 0,3	10,7 ± 0,1	11,3 ± 0,3	12,7 ± 0,3
Канаміцин	30	13,7 ± 0,3	12,7 ± 0,1	16,3 ± 0,3	10,3 ± 0,3	17,7 ± 0,3	15,0 ± 0,3	18,3 ± 0,3
Еритроміцин	10	31,7 ± 0,3	28,3 ± 0,3	21,7 ± 0,3	23,3 ± 0,3	26,3 ± 0,6	25,7 ± 0,3	32,3 ± 0,3
Тилозин	15	23,3 ± 0,3	29,3 ± 0,3	18,3 ± 0,2	20,6 ± 0,3	22,7 ± 0,3	27,7 ± 0,3	31,7 ± 0,3
Тетрациклін	10	24,3 ± 0,3	25,7 ± 0,1	25,0 ± 0,3	29,3 ± 0,3	24,3 ± 0,3	26,3 ± 0,3	25,0 ± 0,3
Доксицикліну гідрохлорид	10	24,7 ± 0,5	25,3 ± 0,03	23,7 ± 0,3	31,6 ± 0,3	29,0 ± 0,3	25,7 ± 0,3	24,7 ± 0,3
Ципрофлоксацин	15	–	–	14,7 ± 0,3	15,6 ± 0,3	12,7 ± 0,3	–	10,0 ± 0,3
Норфлоксацин	10	10,0 ± 0,1	–	14,7 ± 0,1	19,0 ± 0,3	17,7 ± 0,3	19,3 ± 0,3	9,7 ± 0,3
Цефалексин	30	16,3 ± 0,3	14,3 ± 0,3	15,3 ± 0,1	19,3 ± 0,3	15,0 ± 0,3	16,7 ± 0,3	18,3 ± 0,3
Цефазолін	30	19,3 ± 0,3	14,3 ± 0,3	18,3 ± 0,3	24,3 ± 0,3	21,3 ± 0,3	20,3 ± 0,3	21,7 ± 0,3
Нітрофуратоїн	300	25,3 ± 0,3	26,3 ± 0,3	15,3 ± 0,6	15,3 ± 0,3	22,3 ± 0,3	22,7 ± 0,3	27,3 ± 0,3
Левоміцетин	30	27,3 ± 0,3	26,3 ± 0,3	20,7 ± 0,3	25,6 ± 0,3	24,7 ± 0,3	24,0 ± 0,3	28,3 ± 0,3
Ванкоміцин	30	–	–	16,7 ± 0,3	20,6 ± 0,1	19,3 ± 0,3	16,3 ± 0,3	–
Поліміксин В	100	11,7 ± 0,3	12,0 ± 0,3	–	–	14,7 ± 0,3	10,7 ± 0,3	12,3 ± 0,3
Рифампіцин	15	25,7 ± 0,3	25,7 ± 0,6	9,7 ± 0,1	29,6 ± 0,3	25,0 ± 0,3	21,0 ± 0,3	24,7 ± 0,3

Висновки

За технологічними параметрами для створення бактеріального препарату для кислотовершкового масла було відібрано три штами МКБ: *L. lactis ssp. lactis* штам IMAU32258, *L. plantarum* штам WCFS1, *L. mesenteroides ssp. mesenteroides* SWU99202.

Штам *L. plantarum* WCFS1 залучений до бактеріального препарату як пробіотичний штам. Встановлено, що всі штами *L. plantarum* росли за температури 10 °C та 30 °C, тимчасом як за температури 45 °C росту не спостерігалось. Представники виду *L. plantarum* характеризувались помірною кислотоутворювальною здатністю – 72...84 °T. Меншою кислотоутворювальною здатністю відзначались штами виду *L. mesenteroides* 63...67 °T.

Досліджувані штами МКБ продемонстрували високу чутливість до антибіотиків усіх груп, за винятком природної стійкості до аміноглікозидів (стрептоміцин, канаміцин) та пеніцилінів.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження полягатимуть у встановленні оптимального співвідношення культур та дози інокуляції МКБ, а також у розробленні технології виробництва кислотовершкового масла з функціональними властивостями.

Дослідження виконані за рахунок коштів наукового проекту «Біотехнологія створення вітчизняних

бактеріальних препаратів для молочної промисловості» (0116U20853).

References

- Ammor, M., Flórez, A., & Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*. 24(6), 559–570. doi: 10.1016/j.fm.2006.11.001
- Bondarenko, V.M. i dr. (2004). Probiotiki i mehanizmy ih lechebnogo dejstvija. *Jeksperim. klin. gastroenterol.* 3, 83–87 (in Russian).
- Botina, S.H. (2008). Vidovaja identifikacija i pasportizacija molochnokislyh bakterij metodami molekularno-geneticheskogo tipirovanija. *Molochnaja promyshlennost'.* 3, 52–54 (in Russian).
- Bron, P.A., Molenaar, D., De Vos, W.M., & Kleerebezem, M. (2006). DNA micro-array-based identification of bileresponsive genes in *Lactobacillus plantarum*. *J. Applied Microbiol.* 100, 728–738. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02891.x
- Brown, T.A. (2001). *Genomy.* Wydawnictwo Naukowe PWN. 17–20.
- Busani, L., Del Grosso, M., Paladini, C., Gtazians, C., Pantosti, A., Biavasco, F., & Caprioli, A. (2004). Antimicrobial susceptibility of vancomycin-susceptible and -resistant enterococci isolated in Italy

- from raw meat products, farm animals, and human infections. *International J. Food Microbiol.* 97, 17–22. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.04.008
- Cisaryk, O.J., Slyvka, N.B., & Musij, L.Ja. (2010). Kyslovershkovye maslo, zbagachene biologichno aktivnymi nutrijentamy. *Zbirnyk statej II Vseukrai'ns'koi' naukovy-praktychnoi' konferencii' LIET. Novitni tendencii' u harchovyh tehnologijah ta jakist' i bezpechnist' produktiv*, 61–64 (in Ukrainian).
- Diduh, N.A., Chagarovs'kyj, O.P., & Lysogor T.A. (2008). Zakvashuvai'ni kompozicii' dlja vyrobnyctva molochnyh produktiv funkcional'nogo pryznachennja (in Ukrainian).
- Khosravi, A., Safari, M., Khodaiyan, F., & Mohammad, S. (2015). Bioconversion enhancement of conjugated linoleic acid by *Lactobacillus plantarum* using the culture media manipulation and numerical optimization. *J. Food Sci Technol.* 52(9), 5781–5789. doi: 10.1007/s13197-014-1699-6
- Kovalenko, N.K. (2002). Razrabotka produktov funkcional'nogo pitaniya na osnove molochnokislj bakterij i ih prakticheskoe ispol'zovanie. *Molochnaja promyshlennost'*. 1, 22 (in Russian).
- Kremenchuc'kyj, G.N., Jurgel', L.G., Sharun, O.V., Stepans'kyj, D.O., Val'chuk, S.I., Koshova, I.P., & Parusov, A.V. (2009). Metody vydilennja ta identyfikacii' gram pozytyvnyh katalazonegatyvnyh kokiv: metod. rekom. (in Ukrainian).
- Lantinen, S., Ouwehand, A., Salminen, S., & Wticht, A. (2012). Lactic acid bacteria microbiological and functional aspect. Fourth edition. CRC Press New RC Press: New York, 2–13.
- Lashhevskij, V.V., & Kovalenko, N.K. (2004). Opredelenie vidovoj prinadlezhnosti shtammov roda *Lactobacillus* s ispol'zovaniem RAPD-tipirovanija. *Mikrobiologicheskij zhurnal.* 66(4), 3–13 (in Russian).
- Li-Dong, G., Li-Jie, Y., & Gui-Gheng, H. (2011). Cholesterol Removal by *Lactobacillus plantarum* isolated from Homemade Fermented Cream in Inner Mongolia of China. *Czech J. Food Sci.* 29 (3), 219–225.
- Maurad, K., & Kaid-Harche, M. (2008). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains from traditional butter made from camel milk in arid regions (Sahara) of Algeria. *Grasas y Aceites*, 59 (3), 218–224. doi: 10.3989/gya.2008.v59.i3.511
- Pavlova, T.A., Vishemirskij, F.A., Gavrilov, G.B., & Jervol'der, T.M. (2009). Kisloslivochnoe maslo povyshennoj taksotrofnosti. *Syrodellie i maslodellie*. 5, 35–37 (in Russian).
- Perdana, J., Bereschenko, L., Roghair, M., Fox, M.B., Boom, R.M., Kleerebezem, M., & Schutyser, M.A.I. (2012). Novel Method for Enumeration of Viable *Lactobacillus plantarum* WCFS1 Cells after Single-Droplet Drying. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(22), 8082–8088. doi: 10.1128/AEM.02063-12
- Samarzija, D., Lukas Havranek, J., Antunac, N., & Sikora S. (2001). Characteristics and Role of Mesophilic Lactis Cultures. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 6(2), 113–120.
- Slyvka, I.M. (2015). Biotehnologija stvorennja bakterial'nogo preparatu dlja vyrobnyctva brynzy. Dysertacija na zdobuttja naukovoogo stupenja kandydata sil'skogospodars'kyh nauk, Bila Cerkva (in Ukrainian).
- Slyvka, I.M., & Cisaryk, O.J. (2015). Deklaracijnyj patent Ukrai'ny na korysnu model' № u 2015 01858. Konsorcium mikroorganizmiv *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus garvieae*, *Enterococcus faecium* dlja vyrobnyctva syru brynza: zajavnyk i vlasnyk patentu L'vivs'kyj nacional'nyj universytet veterynarnoi' medycyny ta biotehnologij imeni S.Z. Gzhyc'kogo. Zajavl. 02.03.2015 r., pozytyvne rishennja 03.06.2015.
- Tsaryk, O., Slyvka, I., & Musij, L. (2017). Screening of technological properties of natural strains of lactic acid bacteria. *Scientific Messenger LNUVMB.* 19(80), 88–92. doi:10.15421/nvlvet8018